

Nr.: M 23 Blatt 1-6	<h1>Lichtmikroskopie</h1>
Methode:	<h2>Videomikroskopie</h2>
Literatur:	MIKROKOSMOS 80, 174 - 181 (1991)
Anwendungsbereich:	Alle Mikroskope mit Fototubus und Köhlerscher Beleuchtung
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 48%;"> <p>Als Videomikroskopie bezeichnet man ganz allgemein die Aufnahme, Wiedergabe und Weiterverarbeitung mikroskopischer Bilder mit den Mitteln der modernen Videotechnik. Man kann dieses relativ junge Gebiet der Mikroskopie in fünf Bereiche gliedern:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Das mikroskopische Bild wird mit einer für das sichtbare Spektralgebiet empfindlichen Videokamera aufgenommen und einem beliebig großen Kreis von Beobachtern über eine praktisch unbegrenzte Zahl von Monitoren gezeigt, zum Beispiel in Klassenräumen und Hörsälen. Dabei kann das Monitorbild mit Hilfe spezieller Geräte, sogenannten Video-Equalizern oder mit anderen Steuergeräten, die zwischen Kamera und Monitore geschaltet sind, manipuliert werden. Beispielsweise lassen sich Kontrast und Konturschärfe erhöhen, Schatten korrigieren und die Farben aussteuern. Elektronisch eingeblendete Pfeile können im Joy-Stick-Betrieb in jede Richtung verschoben werden und beliebige Stellen im Präparat markieren. Daten und Muster werden von Computern dem mikroskopischen Bild auf dem Monitor überlagert. Mit einem Videorecorder können alle Vorgänge aufgezeichnet, später geschnitten oder nach speziellen Methoden weiterverarbeitet werden. 2. Das von der Videokamera analog aufgenommene und später digitalisierte Bild wird in den Bildspeicher eines Computers übernommen. Diese Technik ermöglicht die Sichtbarmachung von Strukturen, die sich normalerweise nicht vom Bilduntergrund abheben würden. Bereits vor etwa 40 Jahren haben L. E. FLORY (1) und A. K. PARPART (2) gezeigt, daß man den Kontrast des mikroskopischen Bildes mit Hilfe der Videotechnik steigern kann. Daraus entwickelte sich die Video-Enhanced Contrast (VEC) Microscopy. 1981 haben R. D. ALLEN und Mitarbeiter (3) in Zusammenarbeit mit HAMAMATSU PHOTONICS durch Kombination dieser Methode mit der elektronischen Bildverarbeitung das AVEC-DIC- und AVEC-POL-Verfahren entwickelt. Diese Abkürzungen stehen für Allen Video Enhanced-Contrast-Differential Interference Contrast bzw. -Polarisation. Der Kontrast des TV-Bildes eines mikroskopischen Objekts wird zunächst analog verstärkt. Dann wird es digitalisiert und von einem Bildcomputer abgespeichert. Nach dem Defokussieren des Mikroskops empfängt die Kamera nur noch den unsauberen Bilduntergrund und die Bildfehler der Optik. Beides zieht der Computer vom ersten Bild, dem Gesamtbild, ab. Zurück bleibt das gereinigte Bild des Objekts. Mit Hilfe der AVEC-DIC-Mikroskopie konnten ALLEN und Mitarbeiter 1981 und ALLEN und WEISS 1987 (4) </div> <div style="width: 48%;"> <p>als erste die nur 25 nm dicken Mikrotubuli des Cytoskeletts lebend beobachten und fotografieren. Die AVEC-POL-Mikroskopie macht auf gleiche Weise die schwache Doppelbrechung vieler biologischer Objekte sichtbar, die wegen des ständig vorhandenen Streulichtuntergrundes vom Auge nicht wahrgenommen wird. Durch Kombination der Videokamera mit einem Bildcomputer kann, wie HÄUSLER und KÖRNER (5) gezeigt haben, auch die Schärfentiefe des mikroskopischen Bildes praktisch unbegrenzt erweitert werden.</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Videokameras mit höchstempfindlichen Bildsensoren sind als Restlichtverstärker wirksam (VIM = video intensified microscopy im Gegensatz zu VEM = video enhanced microscopy). Damit kann beispielsweise eines der schwierigsten Probleme der Fluoreszenzmikroskopie, die schonende Untersuchung lebender Zellen bei möglichst hoher Auflösung, überwunden werden. Bei minimaler Anregungsenergie wird das schwache Photonensignal des fluoreszierenden Objektes in ein sichtbares Analogbild umgesetzt. Diese Technik ist u. a. die Grundlage der Fluoreszenz-Analog-Cytochemie (6). 4. Man kann die Videokamera mit Sensoren für die nicht sichtbaren Spektralbereiche ausrüsten. Bereits eine ganz normale Schwarzweiß-Videokamera (ohne IR-Filter) ist für den Bereich von etwa 400 bis 1200 nm, also bis ins nahe Infrarot, empfindlich. Solche Kameras spielen heute in der UV- und IR-Mikroskopie eine große Rolle. 5. Bei der automatischen Bildanalyse ist an die Stelle der Flying spot-Systeme und des Objektscannings das Bildscanning mit Videokamera getreten. Diese kann das mikroskopische Bild in ausreichend kleine Teilchen (Pixel) zerlegen, die dann vom Computer weiterverarbeitet werden. Solche Systeme ermitteln u. a. die Anzahl bestimmter Teilchen, die Fläche, die Konturlänge und den Durchmesser mikroskopischer Objekte, die Häufigkeitsverteilung solcher Größen und andere Parameter. </div> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <h3>Die Videokamera</h3> <p>In den letzten Jahren ist man von der mit Bildaufnahmeröhren ausgerüsteten Videokamera mehr und mehr abgekommen, obgleich diese viele Vorzüge hat. An ihre Stelle ist die Halbleiter-Videokamera mit CCD-Sensoren getreten. Sie zeichnet sich durch besondere Eigenschaften aus. Von allgemeinem Interesse sind kompakte Bauformen, geringes Gewicht und geringe Leistungsaufnahme. Erst diese Miniaturisierung ermöglichte die Konstruktion der</p> </div>	

zahlreichen leistungsstarken Camcorder. Der vollständige Halbleitersaufbau widersteht wesentlich höherer Beanspruchung als der konventionelle Aufbau mit einer empfindlichen Röhre. Außerdem ist der CCD-Chip im Gegensatz zur Röhre durch Licht praktisch nicht zu zerstören. Überbelichtung des Bildsensors hat keine schädlichen Auswirkungen.

Im normalen Betrieb ist eine CCD-Videokamera fast unzerstörbar. Sie kann viele Jahre hindurch ohne Ausfallerscheinungen betrieben werden.

Die Wiedergabe der Objekte ist weitgehend verzeichnungsfrei. Fehler, die durch eine möglicherweise verzeichnende Optik auftreten, können durch eine entsprechende Kalibrierung eliminiert werden. Magnetische Felder in der Nähe der Kamera haben keinen Einfluß auf die Bildgeometrie. Für die Mikroskopie sind ganz normale CCD-Kameras mit Wechseloptik (C-Mount) für Schwarzweiß- oder Farbaufnahmen besonders gut geeignet. Sie werden von vielen Firmen hergestellt, u. a. von GRUNDIG, HAMAMATSU, HUND, KAPPA und PANASONIC, um nur einige zu nennen. In der Mikroskopie werden meistens Videokameras mit einem Gewicht von 400 bis 800 Gramm eingesetzt, deren CCD-Chip einer 1/2"- oder 2/3"-Videcon-Röhre mit einer effektiven Empfängerfläche von $5,4 \times 7,2$ bzw. $6,6 \times 8,8$ mm entspricht. Die Zahl der Bildpunkte liegt bei den meisten CCD-Farbkameras zwischen 604×576 und 780×576 bei einer horizontalen Auflösung von 240 bis 380 Linien, die Größe der Pixel zwischen 11×11 und $11 \times 15,4 \mu\text{m}$. Bei den CCD-Schwarzweißkameras liegen die Verhältnisse etwas günstiger: Bis 600×590 Bildpunkte bei einer horizontalen Auflösung von maximal 560 Linien. Die erforderliche Lichtmenge, bei der ein auswertbares Bild entsteht, beträgt bei den CCD-Farbkameras meistens 5 bis 30, bei den Schwarzweißkameras (ohne IR-Filter) 0,5 bis 30 Lux. Die als Restlichtverstärker dienenden Kameras müssen jedoch wesentlich empfindlicher sein (z. B. 5×10^{-6} Lux). Hierfür und für die Detektion unsichtbarer Spektralgebiete werden vielfach noch Röhrenkameras mit speziellen Aufnahmeöhren und elektronischen Verstärkern eingesetzt. Eine besondere Stellung nehmen die High-Speed-Videokameras für Kurzzeitbelichtung ein. Eine Hochgeschwindigkeitskamera kann Bilder mit erhöhter Bildfrequenz unter Beibehaltung der Fernsehnorm aufnehmen. Normale Motive werden mit einer Verschlusszeit von 1/Bildfrequenz aufgenommen. Um auch von schnellen Bewegungsabläufen scharfe Bilder ohne Verwischen zu erhalten, läßt sich die Kamera auf 1/2000 Sek. umschalten. Wird die Aufnahme später vom Videorecorder als Zeitlupe oder als Standbild wiedergegeben, so sind die Bilder wesentlich klarer und schärfer.

Anpassung der Videokamera an das Mikroskop

Meistens wird erwartet, daß auf dem Monitor mit der Größe des Okular-Sehfeldes vergleichbare Bilder dargestellt werden, doch ist die Ausnutzung des Okular-Zwischenbildes durch folgende Relation gegeben:

$$\text{Zwischenbildausnutzung} = \frac{\text{Diagonale Empfängerfläche der Kamera}}{\text{Sehfeldzahl}}$$

wenn der Sensor im direkten, vom Objektiv erzeugten Zwischenbild liegt oder

$$\text{Zwischenbildausnutzung} = \frac{\text{Diagonale Empfängerfläche der Kamera}}{\text{Sehfeldzahl} \times M_{\text{Projektiv}}}$$

wenn der Sensor in Höhe der (gedachten) Filmebene im vergrößerten Bild des Projektivs oder Okulars liegt.

Beispiel 1:

A. Sensor 1/2" = effektive Empfängerfläche $5,4 \times 7,2$ mm, Diagonale = 9 mm.

B. Sensor 2/3" = effektive Empfängerfläche $6,6 \times 8,8$ mm, Diagonale = 11 mm.

Sehfeldzahl 18.

Zwischenbildausnutzung A = $9/18 = 0,5$

Zwischenbildausnutzung B = $11/18 = 0,6$

Beispiel 2:

A. Sensor 1/2" = effektive Empfängerfläche $5,4 \times 7,2$ mm, Diagonale = 9 mm.

B. Sensor 2/3" = effektive Empfängerfläche $6,6 \times 8,8$ mm, Diagonale = 11 mm.

Sehfeldzahl 18, Projektiv 4:1.

Zwischenbildausnutzung

A = $9/18 \times 1/4 = 0,12$

Zwischenbildausnutzung

B = $11/18 \times 1/4 = 0,15$

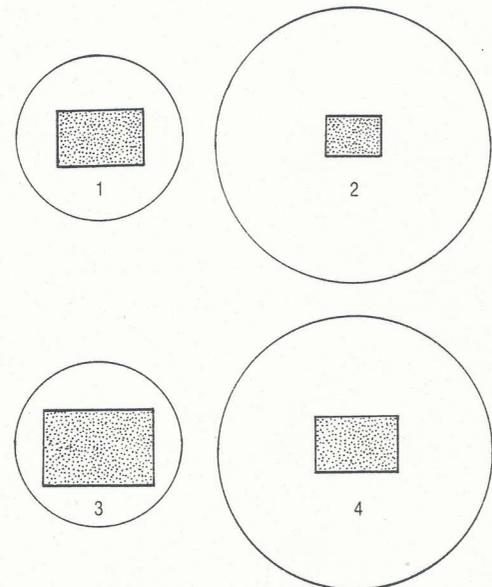


Bild 1: Anordnung des CCD-Sensors im mikroskopischen Bild.

1 1/2"-Sensor im reellen Zwischenbild des Objektivs.

2 1/2"-Sensor im vergrößerten Bild des Projektivs.

3 2/3"-Sensor im reellen Zwischenbild des Objektivs.

4 2/3"-Sensor im vergrößerten Bild des Projektivs.

Diese Beispiele zeigen, daß das größte Feld bei der Anordnung des CCD-Sensors im reellen Zwischenbild gegeben ist. Der Nachteil der Methode liegt hauptsächlich darin, daß die Bildfehler des Objektivs, die normalerweise vom Projektiv oder Okular kompensiert werden, auf dem Sensor voll wirksam sind. Deshalb sollte man hier gut korrigierte Objektive verwenden.

wie sie heute in großer Auswahl zur Verfügung stehen. Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, daß das Auflösungsvermögen der Objektive nicht voll ausgeschöpft wird und ein Informationsverlust in Kauf genommen werden muß. Hingegen wird bei der Nachvergrößerung des reellen Zwischenbildes durch ein Projektiv oder Okular die durch ein Mikroskopobjektiv noch aufgelöste kleinste Objektstruktur auf einen Wert vergrößert, der über der Linien- bzw. Punktstruktur des Sensors liegt. Wie Bild 1 zeigt, ist die vom Sensor ausnutzbare Fläche wesentlich kleiner als beispielsweise bei der Kleinbild-Mikrofotografie. Man sollte deshalb mit möglichst niedrigen Bildübertragungsfaktoren (z. B. mit schwachen Projektiven) arbeiten. Noch wichtiger als die Ausnutzung des Zwischenbildes ist die auf dem Monitor dargestellte Objektfelddiagonale $2y$:

$$2y = \frac{\text{Diagonale Empfängerfläche der VK}}{M_{\text{Objektiv}} \times q_{\text{Tubus}} \times M_{\text{Projektiv}}}$$

(q_{Tubus} = eventueller Faktor der Tubuslinse, VK = Videokamera). Die hier geschilderten Besonderheiten der Videokamera müssen bei ihrer Anpassung an das Mikroskop berücksichtigt werden, was unter Umständen eine mechanische Änderung des Fototubus nötig macht.

A. CCD-Sensor im reellen Zwischenbild

Ganz ohne Verwendung eines normalen oder trinokularen Tubus kann man diese Anordnung realisieren, wenn man eine Ringschwalbe mit

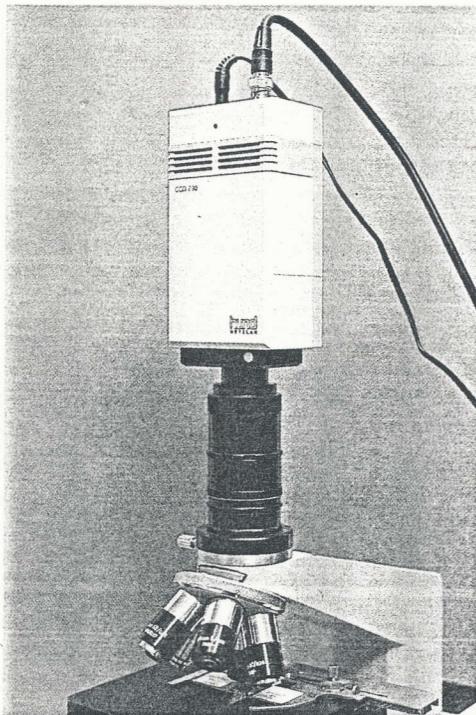


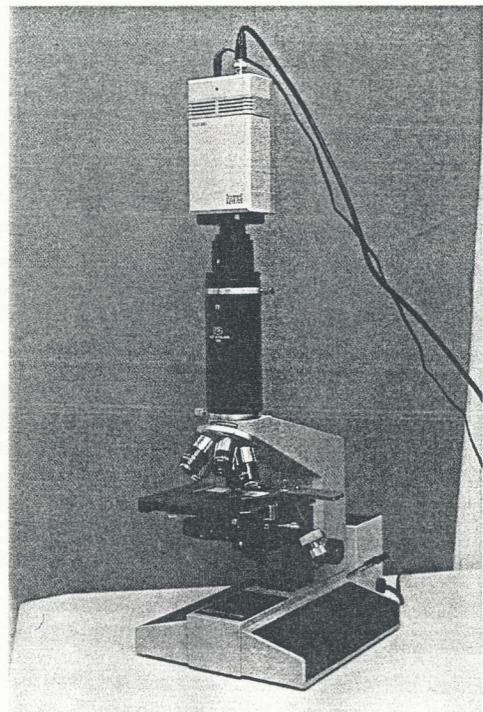
Bild 2: CCD-Sensor der Videokamera im reellen Zwischenbild des Mikroskops. Die Kamera wurde mit M 42-Zwischenringen und C-Mount-Adapter angepaßt.

einem M 42-Gewinding ausrüstet und dann unterschiedlich lange M 42-Zwischenringe, zum Beispiel von einem Mikrozwischenstück, aufschraubt. Der letzte Ring trägt den C-Mount M 42-Adapter für die Videokamera (Bild 2).

Man stellt zuerst mit dem monokularen oder binokularen Tubus und den Objektiven $10\times$ bis $20\times$ ein geeignetes Präparat scharf ein, entfernt dann den Tubus und ersetzt ihn durch den beschriebenen Aufsatz mit der Videokamera. Durch Wegnehmen oder Hinzufügen von Zwischenringen wird der Punkt gesucht, bei dem ohne Veränderungen an der Einstellung des Mikroskops ein scharfes mikroskopisches Bild auf dem Monitor erscheint. Der CCD-Sensor liegt dann genau im reellen Zwischenbild des Objektivs, ohne daß dieses umfokussiert wurde. Geringe Korrekturen der Feineinstellung beim Objektivwechsel sind ohne Bedeutung für die Bildqualität.

Wenn ein trinokularer Tubus oder ein mikrofotografisches Gerät mit Einstellfernrohr verwendet wird, die in der Regel mit positiven Projektiven arbeiten, ist die richtige Anordnung des CCD-Sensors im reellen Zwischenbild nur durch Kürzen des Fotostutzens möglich. Das reelle Zwischenbild liegt je nach Mikroskophersteller 10 bis 18 mm unterhalb des oberen Tubusrandes. Um mindestens den doppelten Betrag muß der Tubus gekürzt, ggf. sogar abgeschnitten werden, wenn er nicht bereits vom Hersteller zerlegbar und somit für die Videomikroskopie ausgeführt wurde. Der gekürzte Fotostutzen wird mit einer Tubusklemme versehen, in die ein M 42-Adapter mit C-Mount und Videokamera eingesetzt wird. Durch Hinzufügen und Wegnehmen unterschiedlich langer M 42-Zwischenringe wird der Punkt gesucht, bei dem das Monitorbild und das visuelle mikroskopische Bild gleichzeitig scharf sind.

Bild 3: CCD-Sensor der Videokamera im vergrößerten Bild eines Projektivs oder Okulars. Spezieller Tubus von PZO mit C-Mount-Adapter. Ersatzweise genügt auch ein Mikrozwischenstück am geraden Fototubus des Mikroskops.



B. CCD-Sensor im vergrößerten Bild des Projektivs oder Okulars

Bei dieser Anordnung gelten die Bedingungen der Mikrofotografie (7, 8, 9). Die Höhe der Kamera ist richtig eingestellt, wenn sich der Sensor in der gedachten Filmebene befindet. Man sollte zunächst nur schwach vergrößernde Projektive oder Okulare verwenden. Bei einer Kameralänge (= Projektionsweite) von 125 mm entspricht ein Okular $5\times$ einem Projektiv $2,5:1$. Bei der Mikrofotografie mit einer Kleinbildkamera würde das bereits zur Vignettierung des Bildes führen. Der relativ kleine CCD-Sensor der Videokamera wird jedoch ausgeleuchtet (s. hierzu Bild 1). Für die Mikroskope der Serien ZEISS-Standard, J-90 und PZO-Mikroskope gibt es einen ganz einfachen Tubus, der in seinem Innern ein Projektiv, ersatzweise ein Okular hat und anstelle des monokularen oder binokularen Tubus in die Ringschwalbenfassung des Stativarms eingesetzt wird (Bild 3). Die Videokamera wird mit einem C-Mount/M 42-Adapter angeschlossen.

Die Videokamera am Vario-Tubus

Besonders einfach ist der Anschluß einer Videokamera an den bereits beschriebenen Vario-Tubus (10) von PZO. Wahlweise kann der CCD-Sensor im reellen Zwischenbild des Objektivs oder im vergrößerten Bild eines negativen Projektivs angeordnet werden. Der Vario-Tubus ist für alle PZO-Mikroskope, für die Mikroskope der Serie ZEISS-Standard und für die der Serie J-90 von MICROTHEK geeignet. Vor der Anordnung des CCD-Sensors der Kamera im reellen Zwischenbild des Mikroskops wird zunächst der Fotostutzen des Vario-Tubus aus der Ringschwalbenfassung genommen, der eigentliche Fototubus vom Mikrozwiischenstück abgeschraubt und das Projektiv entfernt. Auf den Fototubus, der normalerweise das Projektiv trägt, schraubt man den C-Mount/M 42-Adap-

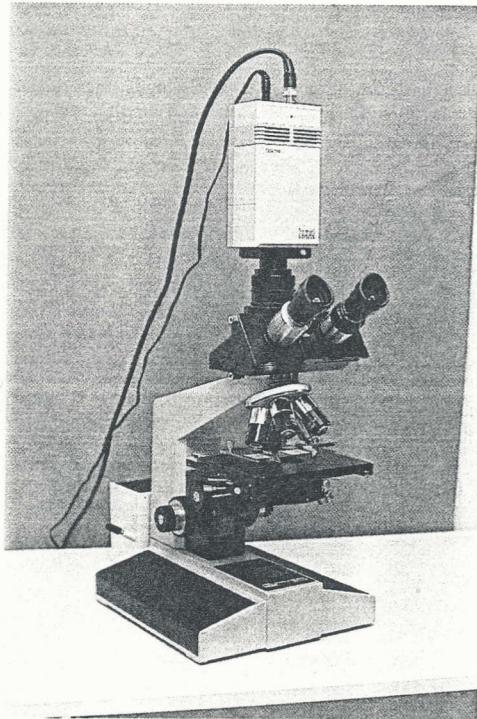
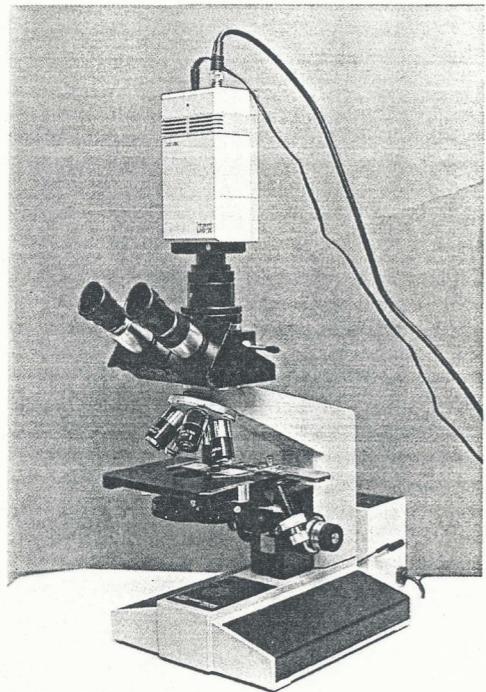


Bild 4: CCD-Sensor der Videokamera im reellen Zwischenbild eines Mikroskops mit Vario-Tubus.

ter mit dem Videokamergehäuse. Wenn das mit den Okularen zu beobachtende Bild und das Bild auf dem Monitor nicht gleichzeitig scharf sind, können diese beiden Bilder durch Einfügen kurzer M 42-Zwischenringe zwischen C-Mount und Fototubus aufeinander abgestimmt werden (Bild 4). Hier leistet auch eine sogenannte ZÖRG-Schnecke mit ihrer präzisen Schneckenangführung gute Dienste. Beide Enden der Schnecken haben M 42-Gewinde. Eingeschraubt ist sie 33 mm lang, ausgezogen 67 mm. In diesem Bereich kann der CCD-Sensor stufenlos und millimetergenau in die Ebene des reellen Zwischenbildes gefahren werden, wenn man das eine Ende der Schnecke auf den Fotostutzen schraubt und das andere mit dem C-Mount-Adapter verbindet.

Bild 5: CCD-Sensor der Videokamera im vergrößerten Bild des Projektivs eines Vario-Tubus.



Sehr kleine und feinstrukturierte Objekte werden am besten mit Projektiven auf den CCD-Sensor übertragen. Man setzt zunächst ein schwaches negatives Projektiv in den Fototubus ein, schraubt das Mikrozwiischenstück des Vario-Tubus auf, das dann den C-Mount-Adapter mit dem Gehäuse der Videokamera tragen kann (Bild 5). Die erforderliche Feinabstimmung der Schärfe von visuellem Bild mit Okularen und Monitorbild kann mit M 42-Zwischenringen, eleganter mit der beschriebenen ZÖRG-Schnecke, ggf. auch durch Anheben des Projektivs im Millimeterbereich, durchgeführt werden.

Die Beschreibung der Anpassung von Videokameras an das Mikroskop und der Feinabstimmung von visuellem Bild und Monitorbild ist komplizierter als die praktische Ausführung dieser notwendigen Arbeiten. Der Service der meisten Mikroskophersteller ist dabei behilflich, besonders dann, wenn Anbieter von Mikroskop und Videokamera identisch sind.

Darstellung mikroskopischer Bilder auf dem Videomonitor

Wenn man die Auflösung der kleinsten Objektstruktur $d_{\min} = 0.61/\lambda A$ annähernd erreichen will, muß die Strecke d_{\min} durch eine Tubuslinse oder ein Projektiv auf einen Wert vergrößert werden, der über der Linien- bzw. Punktstruktur des CCD-Sensors liegt. Auf dem Monitor ist die Grenze der Auflösung in vertikaler Richtung bei in Zeilenrichtung verlaufenden Strichen durch die Zeilenrasterung gegeben. Die sichtbare Zeilenanzahl $z = 585$ von den 625 Zeilen der europäischen Fernsehnorm begrenzt die Auflösung des mikroskopischen Bildes. Für eine gute und kontrastreiche vertikale Auflösung müssen die abzubildenden Strukturen mindestens um den Faktor 3 größer als das Zeilenraster sein. Die Ausschöpfung des Auflösungsvermögens der Objektive erfordert einen Übertragungsfaktor ÜF, z. B. durch ein Projektiv, von 2 bis 3. Der Verfasser arbeitet mit negativen Projektiven und einem ÜF von 2.3 bis 3. Das bedeutet in der Praxis, daß der Ausschnitt aus dem visuellen mikroskopischen Bild relativ klein ist. Die horizontale Auflösung ist meistens um den Faktor 0.66 geringer als die vertikale Auflösung. Bei Strukturen, z. B. Strichrastern unter einem Winkel α zur Zeilenrasterung, wird die Auflösung um den Wert $b/\sin\alpha$ besser. Darin ist b die minimale Breite des Strichrasters. Deshalb sollte man Videomikroskope mit drehbarem Tisch ausrüsten. Es genügt bereits ein Kreuztisch, der im Bereich von 0 bis 180° gedreht werden kann. Diese Forderung wird viel zu wenig beachtet. Durch Drehen von mikroskopischen Objekten relativ zur Kamera kann man Strukturen erkennen, die vorher nicht sichtbar waren. Die Modulationsübertragungsfunktion MTF gibt an, wie gut die Kamera zwischen benachbarten Hell- und Dunkelstrukturen unterscheiden kann. Das Farbunterscheidungsvermögen und die richtige Wiedergabe der Farben ist hauptsächlich eine Frage der Beleuchtung des mikroskopischen Objekts. Hier gilt: Wo kein Licht, ist auch keine Farbe. Der Mikroskopiker ist oft enttäuscht, wenn die Farben bei der Interferenz- und Polarisationsmikroskopie nicht die erwartete Intensität haben. Hier ist eine Beleuchtung mit der 12-Volt-/100-W-Hochleistungsmikroskopierleuchte angebracht. Videokameras ohne automatische Lichtwertregelung gibt es kaum noch. Für die Videomikroskopie wären sie ungeeignet. Eine elektronische Farbtemperaturanpassung wird meistens durch Verschieben der Farbsignale zueinander mit einem automatischen Weißabgleich erreicht. Bei der Videomikroskopie wird das objektfreie Feld von der Kamera als weiß definiert und weiß auf dem Monitor wiedergegeben, sofern die Farbtemperatur der Mikroskopierleuchte den Wert von 3200 K nicht wesentlich unterschreitet. Wenn sich der CCD-Sensor im reellen Zwischenbild des Mikroskops befindet, ist der Abbildungsmaßstab auf dem Videomonitor durch folgende Beziehungen festgelegt:

$$M_{\text{Monitor}} = M_{\text{Objektiv}} \times q_{\text{Tubus}} \times \frac{\text{Diagonale Monitor}}{\text{Diagonale CCD-Sensor}}$$

Wenn sich der CCD-Sensor in der Bildebene eines Projektivs befindet, gilt die Beziehung

$$M_{\text{Monitor}} = M_{\text{Obj}} \times q_{\text{TU}} \times M_{\text{Proj}} \times \frac{\text{Diagonale Monitor}}{\text{Diagonale CCD-Sensor}}$$

Um dem Beobachter eine auf dem Monitor dargestellte Struktur als aufgelöst erscheinen zu lassen, ist ein bestimmter Betrachtungsabstand w und ein förderlicher Vergrößerungsmaßstab einzuhalten:

$$M_{\text{förderlich}} = 500 \dots 1000 \times \frac{w}{250}$$

Bei einem Betrachtungsabstand von etwa 0,5 m vom Monitor entspricht dessen förderlicher Abbildungsmaßstab den zu stellenden Anforderungen.

Es gibt spezielle Monitore für die Videomikroskopie und Bildverarbeitung, die höchsten Ansprüchen gerecht werden. In den meisten Fällen wird man sich jedoch mit einem guten flimmerfreien Fernsehgerät begnügen, dessen Bildschirm eine Diagonale von 36 cm (= 14") haben sollte, wenn man in nächster Nähe des Geräts arbeitet. Für Klassenräume und Hörsäle sind möglichst große Bildschirme wünschenswert.

Anpassung eines Camcorders an das Mikroskop (Bild 6)

Im allgemeinen gilt der Camcorder als ungeeignet für die Videomikroskopie, weil sein Objektiv nicht wechselbar ist. Bei abgeschalteter Automatik des Motor-Zoom-Objektivs kann er dennoch an ein Mikroskop angepaßt werden. Man benötigt einen speziellen Adapter, der aus einer Tubusklemme für das vorhandene Mikroskop, einem kurzen Zwischenring und einem Gewinding für das Filtergewinde des Camcorder-Objektivs besteht. Wenn man den Camcorder mit Hilfe dieses Adapters an den Fototubus des Mikroskops anschließt, so fallen Austrittspupille des Mikroskops und Eintrittspupille des Camcorder-Objektivs ungefähr zusammen. Die Brennweite des Camcorder-Objektivs muß so eingestellt werden, daß der günstigste Bildausschnitt auf den CCD-Sensor übertragen wird.

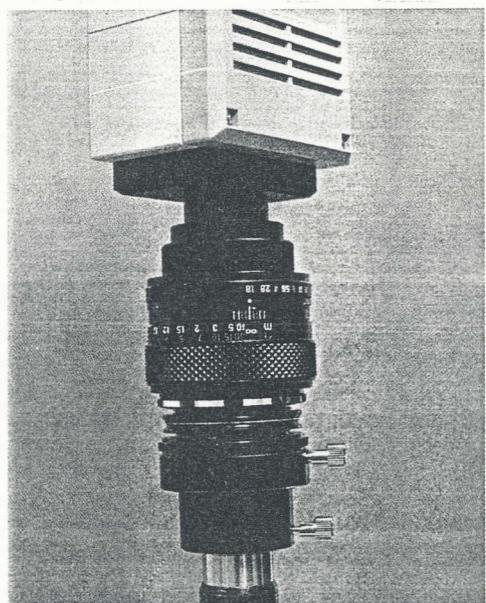


Bild 6: Adapter für den Anschluß von CCD-Videokameras oder Camcordern mit Objektiv an einen Fototubus mit Okular.

Mit Rücksicht auf die kleine Fläche des Sensors sollte das Okular eine möglichst geringe Eigenvergrößerung (etwa $5\times$) und eine möglichst hoch liegende Austrittspupille haben. Bei der Mikrofotografie würde diese Anordnung bereits zur Vignettierung des Filmformats führen. Anlässlich der 3. Internationalen Mikroskopie-Tage in Hagen (1990) hat Herr WOLFGANG EXNER aus Singen hervorragend gute Videofilme gezeigt, die er von lebenden Objekten mit einem in der beschriebenen Weise am Polarisations-Interferenzmikroskop BIOLAR PI adaptierten Camcorder (Video 8) aufgenommen hat.

Mikro-Videografie

Der aufmerksame Leser hat bereits bemerkt, daß die Terminologie der Videomikroskopie nicht einheitlich ist und von den einzelnen Autoren unterschiedlich verwendet wird. Als Mikro-Videografie bezeichne ich die Herstellung von Videoaufzeichnungen (Videofilmen) von Bewegungsabläufen im mikroskopischen Bereich. Erforderlich sind eine Videokamera (ersatzweise ein Camcorder), ein (besser zwei) zum „Assemble Schnitt“ befähigter Videorecorder und ein Monitor bzw. ein flimmerfreies Fernsehgerät. Für das „Schneiden“ der Aufnahmen benötigt man zusätzlich ein Schnittsteuerpult bzw. einen Video-Processor, einen Video-Compiler oder einen Video-Equalizer zur Bild- und Tonbearbeitung auf Digitalbasis. Das Angebot ist groß und wechselt sehr rasch, weil sich die Technik z. Zt. noch in rasantem Tempo entwickelt. Im einschlägigen Handel gibt es viele Hilfen, z. B. das „Video Equipment Total“ oder das „Video-Zubehör-Handbuch“ (beide von Rowi).

Der Videorecorder muß für den Anschluß einer Kamera vorgesehen sein. Ein Fernsehgerät bzw. ein Monitor dienen zur Bildkontrolle. Der Recorder soll neben einer guten Aufnahme- und Wiedergabequalität auch Zeitlupe, Zeitraffer und Einzelbildschaltung ermöglichen, um beispielsweise schnelle Bewegungsabläufe analysieren zu können. Eine Vertonung der Aufnahmen ist heute mit fast allen Recordern möglich. Die technische Entwicklung der Geräte ist noch lange nicht abgeschlossen. Mit den meisten der z. Zt. für die Mikroskopie empfohlenen Kameras und Recordern werden jedoch befriedigende Resultate erzielt.

Video-Printer, die bei der routinemäßigen Dokumentation eine mikrofotografische Einrichtung ersetzen können, sind noch recht teuer, wenn auch die Preise bereits fallen. Diese Geräte liefern in kurzer Zeit ein Farbbild von erstaunlich guter Qualität. Sie werden in den nächsten Jahren die Mikrofotografie in einigen Bereichen verdrängen.

Die Mikro-Videografie ist eine sehr interessante Art der Dokumentation. Sie hat die Mikro-Kinematografie bereits überholt, obgleich sie gewisse technische Grenzen hat. Bei der Videografie werden 25 Bilder pro Sekunde aufgezeichnet, die dann mit veränderter Bildfrequenz abgespielt werden. Hingegen werden die Bewegungsabläufe bei der Kinematografie mit erheblich höherer oder niedrigerer Bildfrequenz aufgenommen, aber stets mit 25 Bildern pro Sekunde wiedergegeben. (s. hierzu auch MIKRO-

KOSMOS 77, 371–376, 1988). Es überwiegen jedoch die Vorteile. Die Mikro-Videografie ist leicht zu realisieren. An die Beleuchtung werden keine sehr hohen Anforderungen gestellt. Das Aufnahmematerial (handelsübliche VHS-Kassetten) ist im Gegensatz zum Super-8- oder 18-mm-Film sehr preiswert und braucht nicht in einem speziellen Labor entwickelt zu werden. Unmittelbar nach der Aufnahme sind die Ergebnisse verfügbar.

Anmerkung: Die Mikroskope in systemintegrierter Bauweise mit Unendlich-Optik wurden hier nicht berücksichtigt, weil sie in der Regel neben der Anschlußmöglichkeit einer oder mehrerer Fotokameras auch einen speziellen Ausgang für eine Videokamera haben.

Literaturhinweise

1. FLORY, L. E.: The Television microscope. Cold Spring Harbour Sympos. 16, 505–509 (1951).
2. PARPART, A. K.: Televised microscopy in biological research. Science 113, 483–484 (1951).
3. ALLEN, R. D. et al.: Video enhanced Contrast-Differential Interference Contrast (AVEC-DIC) Microscopy. A new method . . . Cell Motility 1, 291–302 (1981).
4. ALLEN, R. D. und D. G. WEISS: Mikrotubuli als intrazelluläres Transportsystem. Spektrum der Wissenschaft, April 1987.
5. HÄUSLER, G. und E. KÖRNER: Abbildung mit erweiterter Schärfentiefe. ZEISS-Inform. 29, 9–13. (1986).
6. WANG, Y. L., J. M. HEIPLE und D. L. TAYLOR: Fluorescent Analog Cytochemistry of Contractile Proteins. Meth. Cell. Biology 25, 1 (1982).
7. GÖKE, G.: Moderne Methoden der Lichtmikroskopie. Franckh, Stuttgart 1988.
8. GÖKE, G.: Großfeld-Mikrofotografie mit einfachen Mitteln. MIKROKOSMOS 71, 250–254 (1982).
9. GÖKE, G.: Mikroskop und Kamera. MIKROKOSMOS 70, 118–126 (1981).
10. GÖKE, G.: Ein Vario-Tubus mit negativem Projektionssystem. MIKROKOSMOS 76, 250–254 (1987).
11. HAUSMANN, K., N. HÜLSMANN und M. ROMETSCH: Mikro-Videografie. MIKROKOSMOS 77, 371–376 (1988).
12. BEYER, H. und H. RIESENBERG: Handbuch der Mikroskopie. 3. Auflage. Berlin 1988.

Verfasser: Gerhard Göke, Bahnhofstr. 27, 5800 Hagen 1.